

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 29 日現在

機関番号：87107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590846

研究課題名(和文)人獣共通感染症 *E. albertii* の新生物型を確立するための研究研究課題名(英文)New biotype of *Escherichia albertii*

研究代表者

村上 光一 (MURAKAMI, Koichi)

福岡県保健環境研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：70446839

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：野鳥、ヒトあるいは食品からの本菌の分離を試みました。菌株 400 株あまりを得ました。このすべてに対してパルスフィールド・ゲル電気泳動装置を用い、プロファイルが他の株と重複しない 106 株を選択しました。106 株はすべてインドール：陽性、リシン脱炭酸：陽性を示し、従来の生物型では分類されませんでした。鶏肉 2 検体から遺伝子型の異なる 3 菌株が分離されました。鶏肉は本菌の人への感染経路の一つではないかと考えられます。また本菌検索の為に PCR プライマーについては、従来報告されたものと比較し、特異度の高いものを確立しました。Vero 毒素2fを保有する本菌の食中毒事例に関して検討し報告しました

研究成果の概要(英文)：We isolated or collected 106 *Escherichia albertii* isolates showing unique PFGE profiles. All of the isolates showed positive-indole/positive-lysine phenotypes. These characters are not identical to *E. albertii* biotype 1 or biotype 2. We also reported that the previously-identified Shiga toxin (Stx) 2f-producing *Escherichia coli* O115:HNM strain F08/101-31, from a symptomatic human, was confirmed in the current study to be *Escherichia albertii* by whole genome DNA-DNA hybridization, sequencing of the *cpn60*, *dnaJ*, and 16S rRNA genes, and by multi-locus sequence typing. Moreover, we reported the primers EA0134-283F/EA0134-446R may be needed for detection of *E. albertii* in food samples. We also reported *E. albertii* isolation from retail food, suggesting that chicken products are a potential vehicle of *E. albertii* transmission.

研究分野：獣医公衆衛生学

 キーワード： *Escherichia albertii* Shiga toxine Chicken meat Infection disease Foodborne disease Pig
 eon wild bird

1. 研究開始当初の背景

Escherichia albertii は、2003年に新種として正式に発表された菌種です。この菌種は特徴的な生化学性状を示さない上に、インチミンの遺伝子 *eae* を保有するなど、他の菌種、特に大腸菌と誤同定されやすい特徴を示します。また、一部の菌株は、Vero 毒素 2f の遺伝子を保有し、ヒトから分離されています。仮に *eae* および Vero 毒素 2f の遺伝子保有だけに着目すると、当該菌株は腸管出血性大腸菌と誤認される可能性もあります。さらにボイド赤痢菌血清型 13 の一部が *E. albertii* であったとの報告もあります。これらのことは感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）に直接関連する事項でもあり、*E. albertii* の情報の整理が必要であると考え本研究を実施しました。

2. 研究の目的

E. albertii の生物型 1 及び 2 に分類されない菌株に関してそれらの性状等を整理することです。

3. 研究の方法

鳩、ウズラ、その他の野鳥、ヒトあるいは食品から本菌の分離を試みました。その結果、収集した菌株が 400 株を超えました。このすべてに対してパルスフィールド・ゲル電気泳動装置を用い、プロファイルが他の株と重複しない 106 株を選択しました。それらの株に対して、生化学性状、遺伝子型、薬剤耐性パターン等を調べました。食品からの分離を詳述すると、内臓は鶏肉（内臓含む）184 検体、野菜（モヤシ等）323 検体を対象としました。分離株に対する生化学性状の解析には API 50 CH、API ZYM、あるいは従来の生化学性状検査用の培地を用いました。

また、本菌検索のための PCR プライマーの検討を行いました。

さらに、Vero 毒素 2f を保有する本菌の食中毒事例に関して検討しました。

4. 研究成果

Nataro らは Manual of Clinical Microbiology, 9 版に *E. albertii* を生物型 1 と生物型 2 に分類しました。生物型 1：インドール：陰性、リシン脱炭酸：陽性、乳糖醗酵：陰性、D-キシロース醗酵：陰性など、生物型 2：インドール：陽性、リシン脱炭酸：陰性、乳糖醗酵：陰性、D-キシロース醗酵：陰性などの 2 つの型です。しかし、Lindsay Oaks らはインドール：陽性、リシン脱炭酸：陽性を示し、上記の 2 つの生物型に該当しない *E. albertii* が鳥由来株に存在することを報告しました。私共の代表分離株 106 株もすべてインドール：陽性、リシン脱炭酸：陽性を示しました。また、私共が検査した 106 株及び 4 株のリファレンス株の生化学性状に共通する性状は、乳糖からの酸の産生陰性、運動性陰性、ラム

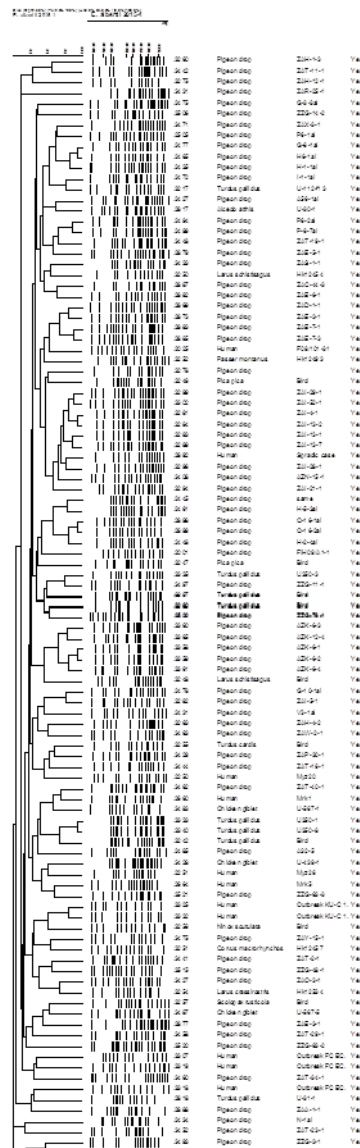


図 用いた菌株 (*Escherichia albertii*) のパルスフィールド・ゲル電気泳動パターンとデンドログラム

ノース陰性等でした。

スプラウト食品からは本菌は分離されませんでした。鶏肉 2 検体から遺伝子型の異なる 3 菌株が分離されました。市販食品（鶏肉）からの本菌の分離は世界初であり、本菌の人への感染経路の一つではないかと考えられます。

また本菌検索の為の PCR プライマーについては、従来報告されたものと比較し、特異度の高いものを確立しました。

さらに、Vero 毒素 2f を保有する本菌の食中毒事例に関して検討し報告しました

このように、本菌では、従来報告されていた生化学性状と異なる菌株の存在が確認され、かつそれらの株が決してマイナーなもの

でないことが判明しました。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 13 件)
(査読付)

Maeda E, Murakami K, Sera N, Ito K, Fujimoto S. 2015. Detection of *Escherichia albertii* from chicken meat and giblets. J. Vet. Med. Sci. (印刷中)(村上責任著)

Maeda E, Murakami K, Okamoto F, Etoh Y, Sera N, Ito K, Fujimoto S. 2014. Nonspecificity of Primers for *Escherichia albertii* Detection. Jpn. J. Infect. Dis. 67:503-505. (村上責任著)

Murakami K, Etoh Y, Tanaka E, Ichihara S, Horikawa K, Kawano K, Ooka T, Kawamura Y, Ito K. 2014. Shiga Toxin 2f-Producing *Escherichia albertii* from a Symptomatic Human. Jpn. J. Infect. Dis. 67:204-208

Maeda E, Murakami K, Etoh Y, Onozuka D, Sera N, Asoshima N, Honda M, Narimatsu H, Iyoda S, Watahiki M, Fujimoto S. 2015. Does Sequence Type 33 of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O91 Cause Only Mild Symptoms? J. Clin. Microbiol. 53:362-364.

Yokoyama E, Ando N, Ohta T, Kanada A, Shiwa Y, Ishige T, Murakami K, Kikuchi T, Murakami S. 2015. A novel subpopulation of *Salmonella enterica* serovar Infantis strains isolated from broiler chicken organs other than the gastrointestinal tract. Vet. Microbiol. 175:312-318.

大石明, 村上光一, 江藤良樹, 世良暢之, 堀川和美. 2015. 食肉およびヒトの便から分離した *Campylobacter jejuni/coli* の薬剤感受性試験並びに耐性遺伝子変異の検討. 感染症学会誌 89:244-253.

Yokoyama E, Murakami K, Shiwa Y, Ishige T, Ando N, Kikuchi T, Murakami S. 2014. Phylogenetic and population genetic analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis strains isolated in Japan using whole genome sequence data. Infect. Genet. Evol. 27:62-68.

Murakami K, Noda T, Maeda E, Sera N, Fujimoto S. 2014. Easy washing of lysed cell plugs for bacterial typing by pulsed-field gel electrophoresis using simple equipment. J. Microbiol. Methods 101:67-69.

Murakami K, Noda T, Onozuka D, Sera N. 2013. *Salmonella* in liquid eggs and other foods in

Fukuoka Prefecture, Japan. Int J Microbiol 2013:463095.

Murakami K, Etoh Y, Ichihara S, Maeda E, Takenaka S, Horikawa K, Narimatsu H, Kawano K, Kawamura Y, Ito K. 2014. Isolation and characteristics of Shiga toxin 2f-producing *Escherichia coli* among pigeons in Kyushu, Japan. PLoS One 9:e86076.

大石明, 前田詠里子, 市原祥子, 江藤良樹, 濱崎光宏, 村上光一, 竹中重幸, 堀川和美. 2013. “カンピロ - プレストン / 2 2 5 TM” と “シカイムノテスト カンピロバクター TM” を併用したカンピロバクター迅速検査法の有用性. 食品微生物学会誌 30:132-135.

Okamoto F, Murakami K, Maeda E, Oishi A, Etoh Y, Kaida M, Makigusa M, Nakashima K, Jinnouchi Y, Takemoto H, Kakegawa H, Yamasaki C, Manabe S, Sasaki M, Ogata K, Ikebe T, Sera N. 2014. A foodborne outbreak of group A streptococcal infection in Fukuoka Prefecture, Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 67:321-322.

(査読なし)
村上光一、江藤良樹、小迫芳正、河村好章、伊藤健一郎、*Escherichia* の新種 *E. albertii* について、IASR Vol. 33 5 月号, p. 134-136: 2012 年

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
特になし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

村上 光一 (MURAKAMI, Koichi)
福岡県保健環境研究所・専門研究員
研究者番号: 70446839

(3)連携研究者

河村 好章 (KAWAMURA, Yoshiaki)
愛知学院大学薬学部・教授
研究者番号: 80262757

竹中 重幸 (TAKENAKA, Shigeyuki)
福岡県保健環境研究所・計測技術課長

研究者番号：60446838

江藤 良樹 (ETOH, Yoshiki)
福岡県保健環境研究所・研究員
研究者番号：50446845